

对淡色庫蚊 *Culex pipiens pallens* Coquillett, 及白紋伊蚊 *Aedes albopictus* Skuse, 的生理年齡觀察*

刘 多**

(中国医学科学院寄生虫病研究所)

近年来国外有不少人采用了苏联 Polovodova 法(卵小管膨大部观察法)来判定不同蚊种雌蚊的生理年龄。Samarawickrema (1962) 在实验室内对常型曼蚊及 *Mansonia annulifera* 产 1—5 次卵的雌蚊进行观察, 认为此法相当满意。Lebied (1959) 在非洲用同法观察了白纹伊蚊等的生理年龄, 从图 3 中可以看出白纹伊蚊产 3—5 次卵者, 其卵小管膨大部数不够清楚。Gillies (1958) 对冈比亚按蚊及 *A. funestus* 用 Polovodova 法进行观察, 认为在判定生理年龄上有一定困难。为了了解卵小管膨大部检查法是否适用于国内的常见蚊种, 现首先对淡色庫蚊及白纹伊蚊作实验室内饲养产卵后的观察。

一、材料和方法

由中国医学科学院寄生虫病研究所培养的纯系淡色庫蚊和白纹伊蚊作为观察对象。两种蚊子分别由卵期饲养至成蚊后, 放入 $19 \times 19 \times 25$ 立方厘米的蚊笼内。每笼装 100—150 只蚊子, 雌雄约各半。庫蚊在羽化后第 4 天给小白鼠叮吸血液, 伊蚊则在羽化后第 5—6 日吸血。笼内另给 10% 葡萄糖水棉球。蚊笼放在 $25-26^{\circ}\text{C}$ 的恒温室内, 笼外盖以湿布以保持湿度。庫蚊多在吸血后 5 天产卵, 伊蚊亦在 4—5 天后产卵。产卵的当天或次日再给以小白鼠喂血。如此重复饲养产卵, 直至分批产卵 1—7 次(淡色庫蚊)或 1—5 次(白纹伊蚊)为止。需要观察卵小管膨大部的蚊子, 在产卵后不给血, 多数在 24—36 小时后解剖。产第一次卵者检查 15—30 条卵小管, 产 2—7 次者尽可能作全部卵小管的检查。另以只给 10% 葡萄糖水的蚊子作为对照。

为了观察蚊子在产卵后若干小时内, 卵小管末端收缩的过程, 将孕蚊分别装入有稻草秆和清水的大指管(2×8 厘米)内, 纱布封口, 外复以湿纱布 2 层, 每 1—2 小时检查其产卵情况一次, 在产后 4、8、12 及 24 小时各解剖一批蚊子。

解剖及观察: 用氯仿使蚊子略受麻醉, 去其翅足, 置于载玻片上一小滴 0.4% 氯化钠溶液中。在解剖镜下或肉眼观察下, 以解剖针拉出其卵巢, 弃去剩下的蚊体。在目镜 8 倍, 物镜 6 倍的双目解剖镜下仔细操作并观察。检查时光线宜略暗, 水量不宜太多。

* 本文承何琦、杨新史、盛伯梁等教授指正, 在工作中尚得到胡江水、陈登宏等同志指导, 特此致谢。

** 现在湖南医学院。本实验系在中国医学科学院寄生虫病研究所进修期间, 在何琦、杨新史教授等指导下完成。

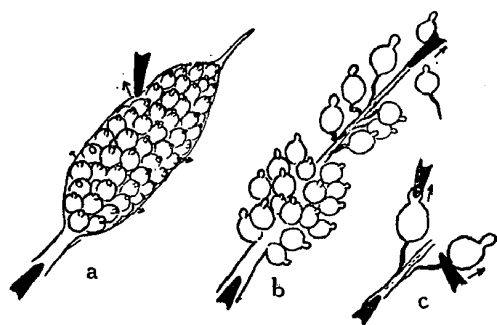


图1 解剖卵小管柄膨大部的操作过程

柄常被較坚韧的卵小管鞘包围,較难观察。

二、結 果

按照 Polovodova 法測定 170 只淡色庫蚊及 104 只白紋伊蚊生理年齡的結果見表 1—6。

淡色庫蚊产卵 1—2 次者,其卵小管有相应膨大部数的蚊子占被检查蚊的 100% (即完全符合);但从产第 3 次卵以后,二者相符的机会显著下降,至产第 6 次卵时仅有 8% 的蚊子可見到有 6 个膨大部者。不仅如此,除产第 1 次卵者可观察到有較多条卵小管有一

表 1 淡色庫蚊未产卵及产 1—6 次卵后,卵小管膨大部数目与之相符的情况

产卵次数	检查蚊只数	卵小管膨大部与产卵次数相符蚊数	相符率(%)	二者相符的蚊子具有相应膨大部的卵小管条数	
				平均数	范围
0	40	29	72.5	—	—
1	22	22	100	11.6	3—22
2	17	17	100	2.9	1—7
3	26	16	61.5	1.5	1—5
4	23	5	21.7	2.0	1—4
5	17	4	23.5	1.0	1—1
6	25	2	8.0	1.0	1—1

注: 产 7 次卵者检查 7 只,均未見到有 7 个膨大部者。

表 2 淡色庫蚊产卵次数与卵小管膨大部数目的关系

产卵次数	检查蚊只数	卵小管具有不同膨大部数的蚊只数						
		0	1	2	3	4	5	6
0	40	29	11*					
1	22		22					
2	17			17				
3	26		5	5	16			
4	23		3	6	9	5		
5	17			6	6	1	4	
6	25		1	5	8	7	2	2

* 均为日龄在 22 天以上者;各有 1—2 条卵小管有 1 个膨大部。

解剖时左手持針固定于側輸卵管上,右手持針小心挑破卵巢鞘(图 1a),同时可略拉去附在卵巢外面的气管。卵巢鞘挑破后各个卵小管頂端彼此散开,此时左手持針不动,右手持針按在內輸卵管(Calyx)上,并向卵巢端絲方向拉扯(图 1b),这种拉扯的力量可使靠近在內輸卵管上的卵小管柄被拉直而便于观察。亦可將卵巢拉断为 4—5 小段,逐段检查。白紋伊蚊的卵小管

表 3 淡色库蚊各卵小管膨大部数目与产卵次数的关系

产卵次数	观察之卵小管条数(%)	具有不同膨大部数目之卵小管条数(%)					
		1	2	3	4	5	6
1	255(100)	255(100)					
2	191(100)	142(74.35)	49(25.65)				
3	390(100)	257(65.90)	109(27.95)	24(6.15)			
4	355(100)	219(61.69)	87(24.51)	39(10.98)	10(2.82)		
5	>120(100)	—	—	—	—	4(<3.33)	
6	372(100)	203(54.57)	122(32.79)	32(8.60)	11(2.96)	2(0.54)	2(0.54)

表 4 淡色库蚊产第一次卵后,卵小管末端的收缩过程(25—26℃)

产卵后时数	检查之卵小管数(蚊数)	凝 状 (长径 > 88.2 微米)	半 收 缩 (长径 48.4—88.2 微米)	收 缩 完 全 (长径 < 44.1 微米)
4	60(8)	53	0	7
8	33(3)	23	3	7
12	85(10)	16	52	17
24	60(9)		6	54
>24	32(6)			32

表 5 淡色库蚊产 1—7 次卵者,每次平均产卵数

产 卵 次 数	观 察 蚊 只 数	平 均 产 卵 数
1	8	201.0
2	9	163.2
3	10	141.1
4	18	104.0
5	12	93.8
6	3	83.0
7	7	91.0

表 6 白纹伊蚊产卵次数与卵小管膨大部数目的关系

产卵次数	检查蚊只数	卵小管具有不同膨大部数的蚊只数					
		0	1	2	3	4	5
0	27	18	9*				
1	26		26				
2	15		6	8	1		
3	19		3	6	10		
4	12		1	7	4		
5	5		1	2	2		

* 日龄均在 13 天以上。

个膨大部外,产 2 次或更多次者,即使是有相应数目膨大部的蚊子,也只有 1—3 条卵小管能见到有与产卵次数相等的膨大部。

淡色库蚊未产卵者 40 只,其中卵小管无膨大部者 29 只,另有 11 只却可以见到有一个膨大部(图 5)。这些有膨大部的未产蚊均为日龄较长的蚊子(本实验中淡色库蚊为 22

天,白紋伊蚊为 13 天以上),且每只蚊子也只有 1—2 条这样的卵小管。

从各条卵小管具有的膨大部数目来分析,不論产 1 次或产 2—6 次卵者,均以能看清有 1 个膨大部者占絕大多数,有 2 个膨大部的机会次之,有 3 个或 3 个以上膨大部者为数愈来愈少。所以,只看一部分卵小管时,往往会漏去見到較多膨大部数目的机会,最好尽可能将全部卵小管小心拉开观察。

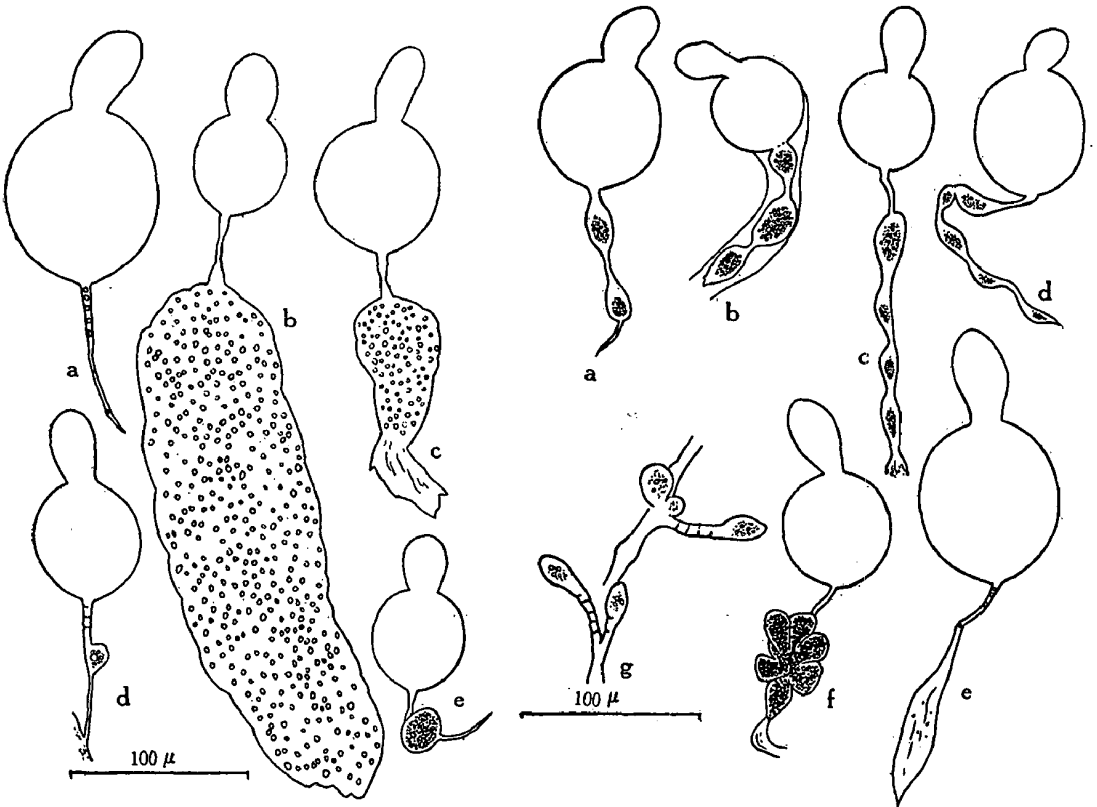


图 2 淡色库蚊未产卵与产 1 次卵后卵小管柄部的形态变化

- a. 未产卵; b. 产一次卵后 4 小时;
c. 产后 8 小时; d. 产后 24 小时;
e. 退化滤泡。

图 3 淡色库蚊产 2—6 次卵后卵小管柄膨大部的不同情况

- a. 产 2 次卵; b. 产 3 次卵; c. 产 4 次卵; d. 产 5 次卵; e. 产 5 次卵,其卵小管下端疏松扩大; f. 产 6 次卵, 6 个退化滤泡相互粘连在一起; g. 产 6 次卵,有一些短棍棒状结构连接在内输卵管上,似为无功能之卵小管。

雌蚊在产卵后卵小管末端扩张为囊状,以后才逐渐收缩为典型的膨大部。我們使淡色库蚊于 25—26℃ 室温下个别产卵,于产后 4、8、12、24 小时及 2—6 天后分别解剖一批,观察其卵小管末端收缩的过程,结果列于表 4。最初 4—8 小时,卵小管末端多数是很长的囊状结构(横径 57—110 微米,长径 92.6—308.7 微米),其中充满了略带黄色的颗粒性细胞残余物。产后 12 小时卵小管末端多数呈半收缩状态,其横径与长径均明显缩小,分别为 35.3—66.1 微米及 48.4—88.2 微米,但未见到囊的下端先行收缩为细柄的过程。产卵后 24 小时絕大部分卵小管已形成典型的膨大部(横径 8.8—30.9 微米,长径在 44.1 微

米以下), 其中含有少数反光性强的透明小颗粒。这种收缩过程在同一只蚊子的卵巢中可以略有参差。产卵后 2—6 天, 其卵小管膨大部与产后 24 小时者相同。

在淡色库蚊中, 有一部分卵小管的末端不形成典型的膨大部而有大小不等的赭黄色圆形或类圆形结构, 即为退化滤泡。每一退化滤泡相当于一个产卵后的膨大部, 因之可以从退化滤泡的数目来推算已产卵的次数。凡是产卵次数愈多者, 退化的滤泡也愈多。

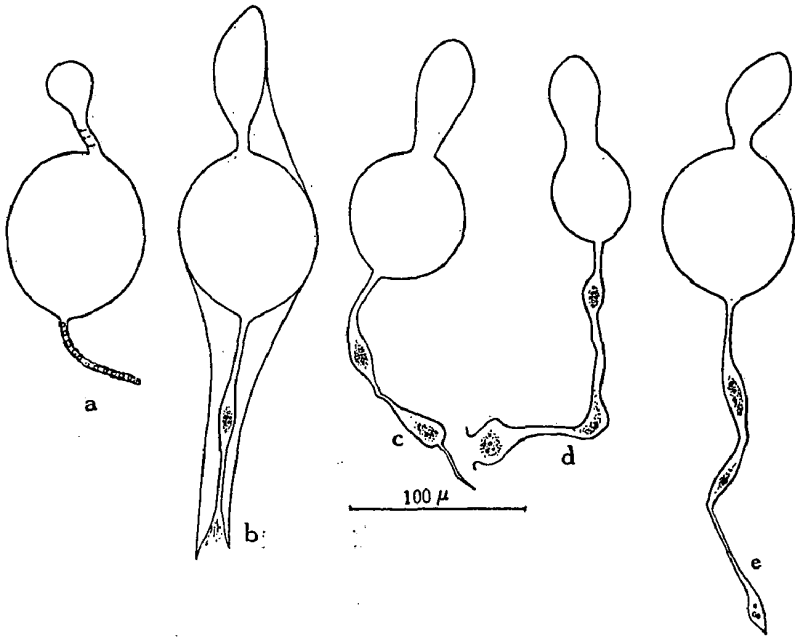


图 4 白纹伊蚊未产卵及产 1—3 次卵后卵小管柄部的形态变化

a. 未产卵; b. 产 1 次卵; c. 产 2 次卵; d. 产 2 次卵, 但有 3 个膨大部; e. 产 3 次卵。

白纹伊蚊产 2 次卵后能見到有 2 个卵小管膨大部者, 仅占被检查数的 53.3%; 产 3 次以上者, 二者相符的机率愈小, 而且卵小管膨大部拉得很长, 分界不够清楚(图 4)。还有一只产 2 次卵的伊蚊, 在一条卵小管上見到了三个膨大部(图 4a), 此蚊日龄为 19 天。

三、討 論

从以上結果可以看出, 用检查卵小管膨大部的方法, 可以正确地判断未产蚊、初产或經产蚊, 虽然有少数未产蚊偶有 1—2 条卵小管有一个膨大部, 但这只在日龄較长的蚊子才会发生, 自然界里蚊子羽化后十多天不吸血不产卵一般是不会有的。这些未产蚊有个別膨大部的原因, 可能是由于个别滤泡在发育早期即行退化的結果。

产 3 次卵以上的淡色库蚊和产 2 次以上的白纹伊蚊, 其卵小管膨大部与产卵次数相符的机会随着产卵次数的增加而递减, 我們认为除了技术上的困难以外, 主要还在于这些蚊子卵巢本身的变化。产 5、6 次卵的淡色库蚊其卵巢一般很小。

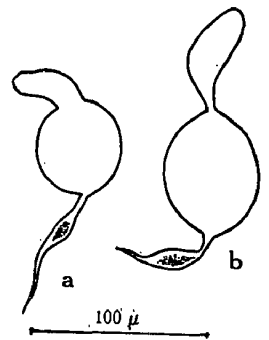


图 5 未吸血、未产卵之雌蚊卵小管偶有一个膨大部

a. 淡色库蚊;
b. 白纹伊蚊。

曾作已产卵 6 次淡色庫蚊 (2 只) 的卵巢滤泡計数, 分别为 76 及 81 个。按第一次产卵数来推算, 每只淡色庫蚊应有滤泡 200 个以上, 現仅 80 个左右, 說明大多数滤泡已退化或根本不再有功能。我們曾在一些老蚊子的卵巢中見到一些如短棍棒狀的結構連接在內輸卵管上, 很象是衰退的卵小管遺迹 (图 3g)。此外, 也能經常在产卵 3 次以上的蚊子卵巢中, 可見到只有 1—2 个膨大部的卵小管。在多次产卵后, 卵小管外膜可能会收缩乏力, 也会影响膨大部的数目; 如一只产 5 次卵的淡色庫蚊, 其卵小管末端疏松扩大沒有明确的膨大部 (图 3e)。

总之, 我們认为用卵小管膨大部检查法来判定蚊子的生理年龄, 对淡色庫蚊和白紋伊蚊來說尚有一定的局限性, 特别是对多次产卵后的蚊子較易产生低估其年龄的錯誤。

四、小 結

通过对产卵 1—7 次的淡色庫蚊及产卵 1—5 次的白紋伊蚊的觀察, 认为卵小管膨大部检查法对判定未产蚊与經产蚊上是可靠的, 但若按膨大部数目来判定蚊子的生理年龄, 則由于在产卵 3 次以上时, 二者相符的机会显著下降而容易造成对生理年龄的低估, 分析这种卵小管膨大部数与产卵次数不相符的原因, 除了技术上的困难以外可能与退化滤泡的增加、未参与生殖过程的滤泡数增加以及卵小管外膜弹性减退等因素有关。未吸血未产卵的淡色庫蚊和白紋伊蚊在日龄較大时, 有个別卵小管可自发地形成一个膨大部。

参 考 文 献

- Detinova, T. S. 1962 Age-grouping methods in Diptera of medical importance, with special reference to some vectors of malaria. Wld Hlth Org. Monograph Series No. 47.
- Gillies, M. T. 1958 A modified technique for the age-grading of the population of *Anopheles gambiae*. *Ann. trop. Med. Parasit.* 52(3):261.
- Lebied, B. 1959 *Riv. Parasitologia*, 20(2):91.
- Samarawickrema, W. A. 1962 Changes in the ovarioles of *Mansonia* (*Mansonioides*) mosquitoes in relation to age-determination. *Ann. trop. Med. Parasit.* 56(1):110.

OBSERVATIONS ON THE PHYSIOLOGICAL AGE OF *CULEX PIPIENS PALLENS* COQUILLET, AND *AÆDES ALBOPICTUS* SKUSE

LIU TUO

(Institute of Parasitic Diseases, Chinese Academy of Medical Sciences)

With the laboratory colony material, we have studied the ovariole dilatations of the uniparous and multiparous *Culex pipiens pallens* and *Aedes albopictus*, to determine their physiological ages, using the unfed multiparous females as control. The result demonstrated that in the case of the uniparous and 2-parous females of *Culex pipiens pallens*, the number of the ovariole dilatations and that of the gonotrophic cycles were quite in agreement, but after the 3rd ovulation, the chance of coincidence was reduced greatly. In the 3rd, 4th, 5th and 6th ovulated females, the percentages of coincidence were 61.5, 21.7, 23.5 and 8.0 respectively. In the 2-parous females of *Aedes albopictus*, there were only eight out of fifteen individuals were found to present two ovariole dilatations. The result showed that using the Polovodova's method, the physiological age of *Culex pipiens pallens* or *Aedes albopictus* would be under-estimated after the 3rd ovulation. In those multiparous females fed with 10% glucose solution only, eleven out of 40 *Culex* and nine out of 27 *aedes* were found to have one or two ovarioles with one small dilatation, which might be identified as the relic of the small degenerated follicle and were present only in older individuals with a calendar age of no less than 13 days. The question of inconsistency is being discussed.